

Europäisches Patentamt European Patent Office

Office européen des brevets



(11) EP 0 791 296 A1

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(43) Date de publication: 27.08.1997 Bulletin 1997/35

(51) Int. Cl.⁶: **A23F 5/24**, A23F 3/16

(21) Numéro de dépôt: 96200359.6

(22) Date de dépôt: 14.02.1996

(84) Etats contractants désignés:

AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL PT SF

Etats d'extension désignés:

LT LV SI

(71) Demandeur:

SOCIETE DES PRODUITS NESTLE S.A. 1800 Vevey (CH)

(72) Inventeurs:

- Wood, Robert Dustan CH-1274 Signy (CH)
- Rippstein, Michel CH-1434 Ependes (CH)
- Baensch, Johannes Landridge Cond., Singapore 0511 (SG)
- (74) Mandataire: Wavre, Claude-Alain 55, avenue Nestlé 1800 Vevey (CH)

(54) Boisson fermentée

(57) Procédé de préparation d'une boisson fermentée, dans lequel on prépare un extrait aqueux à partir de 0,5-2% de thé ou de café, on recueille l'extrait aqueux auquel on ajoute du sucre, on effectue une fermentation en une ou plusieurs étapes avec au moins une souche de levure et au moins une souche bactérienne, on écarte les insolubles de la boisson fermentée, puis on la traite thermiquement.

L'invention concerne également la boisson fermentée obtenue par la mise en oeuvre du procédé.

10

25

Description

La présente invention a pour objet un procédé de préparation d'une boisson fermentée ainsi que la boisson fermentée obtenue par ce procédé.

La préparation de boissons fermentées, notamment de thé fermenté par une souche de levure et/ou une souche de bactérie, est connue depuis longtemps.

Traditionnellement, la fermentation du thé se fait en surface durant une dizaine de jours voire même plus longtemps. La mère est de composition variable, elle contient notamment des polysaccharides et croît rapidement jusqu'à devenir encombrante. Aussi, par la mise en oeuvre d'un procédé traditionnel, il n'est pas possible de produire un thé fermenté en grandes quantités.

Deutsche Lebensmittel-Rundschau, <u>83</u>, 286-290, 1987 décrit un procédé de préparation de boissons fermentées, notamment d'un thé noir fermenté, dans lequel on effectue une fermentation en une seule étape d'un filtrat de thé noir par une souche de levure, notamment une souche de *Schizosaccharomyces pombe*, et une souche de bactérie, notamment une souche d'*Acétobacter xylinum*, pendant six jours, de manière à obtenir une boisson au goût agréable. La fermentation ne se fait pas en surface mais présente l'inconvénient d'être relativement longue.

La présente invention a pour but de proposer un procédé de préparation d'une boisson fermentée dans des conditions particulièrement simples et en un temps de préparation relativement court permettant ainsi la production d'une boisson fermentée en grandes quantités.

A cet effet, dans le procédé de préparation d'une boisson fermentée selon la présente invention:

- on prépare un extrait aqueux à partir de 0,5-2% de thé ou de café,
- on ajoute à cet extrait 4-13% de sucre,
- on effectue une fermentation en une ou plusieurs étapes avec au moins une souche de levure et au moins une souche bactérienne,
- on écarte les insolubles de la boisson fermentée,
- puis on la traite thermiquement à 85-140° C pendant 30 s à 15 min.

On a constaté avec surprise qu'un tel procédé permet effectivement de produire en grandes quantités une boisson fermentée au goût agréable en un temps de préparation court.

Pour mettre en oeuvre le présent procédé, on prépare donc un extrait aqueux à partir de 0,5-2% de thé ou de café.

Si l'on prépare l'extrait aqueux à partir de thé, on peut infuser 0,5-2% de thé noir ou vert dans de l'eau bouillante pendant 3-30 min, par exemple. Pour ce faire, on peut infuser le thé dans un sachet filtre plongé dans l'eau bouillante, par exemple. Mais l'on peut également infuser le thé directement dans l'eau bouillante, puis effectuer une centrifugation ou une filtration, de manière

à séparer les insolubles de l'extrait aqueux, par exemple.

Si l'on prépare l'extrait aqueux à partir de café, on peut diluer 0,5-2% de café soluble dans de l'eau bouillante, par exemple.

De préférence, on ajoute à l'extrait aqueux 4-13% de sucre, notamment du saccharose, comme substrat pour la fermentation par au moins une souche de levure.

On peut inoculer à l'extrait aqueux, pour la fermentation en une ou plusieurs étapes, 0,02-0,2% d'une culture contenant 10⁷ à 10¹⁰ germes d'une souche de levure, notamment une souche de *Saccharomyces cerevisiae*, de manière à produire de l'éthanol, et 0,2-1,5% d'une culture contenant 10⁷ à 10⁹ germes d'une souche bactérienne, notamment une souche d'Acétobacter ou une souche de *Gluconobacter*, de manière à acidifier l'extrait aqueux.

Pour la fermentation par au moins une souche de levure, on peut utiliser comme souche de Saccharomyces cerevisiae celle commercialisée sous la dénomination DCL Spady par The Distillers Company Limited, Collingwood House, Sutton, Surrey SM3 AT England ou celle commercialisée sous la dénomination Castelli par Laboratorio Zimotecnico Italiano, via dei Setti Santi 28, IT-Florence, par exemple.

Pour la fermentation par au moins une souche bactérienne, on peut notamment utiliser la souche d'*Acétobacter*, déposée le 16 janvier 1996, selon le traité de Budapest, à la Collection Nationale de Microorganismes, INSTITUT PASTEUR, 25 Rue du Docteur Roux, F-75724 PARIS CEDEX 15, France, où elle a reçu le numéro de dépôt CNCM I-1656. On peut également utiliser la souche de *Gluconobacter suboxydans* accessible à la Collection DEUTSCH SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN, DE-BRAUNSCHEIG, où elle a reçu le numéro de dépôt DSM 50049, par exemnle

On peut effectuer la fermentation dans un fermenteur sous une pression relative de 50-80 kPa, par exemple. On peut notamment utiliser comme fermenteur, un fermenteur de type PAC - Fermenteur APP No 9-273-300-68, commercialisé par Chemap SA, CH-8604 VOL-KETSWIL.

On peut également effectuer la fermentation dans une simple cuve ouverte, par exemple.

Dans un premier mode préféré de réalisation du procédé selon la présente invention, on inocule à l'extrait aqueux simultanément une souche de levure et une souche bactérienne et l'on effectue la fermentation en une seule étape en conditions aérobies, à 27-32° C pendant 2-10 h.

De préférence, on ajuste le pH de l'extrait aqueux à une valeur de 4 à 5,5 avant la fermentation, de manière à faciliter la fermentation par la souche de levure.

Dans un second mode préféré de réalisation du procédé selon la présente invention, on effectue la fermentation en conditions aérobies en deux étapes. Pour ce faire, on inocule à l'extrait aqueux tout d'abord une

50

20

25

30

souche de levure et l'on laisse fermenter à 27-32° C, pendant 15-27 h. Puis on inocule à l'extrait aqueux une souche bactérienne et l'on laisse fermenter à 20-32° C pendant 3-9 h.

De préférence, on ajuste la température du milieu à 17-25° C avant d'inoculer la souche bactérienne, de manière à ralentir la formation d'éthanol due à la fermentation par la souche de levure.

En fin de fermentation en une ou plusieurs étapes, on peut abaisser la température à 0-12° C, de maitière à diminuer la production d'éthanol due à la fermentation par la souche de levure et l'acidification due à la fermentation par la souche bactérienne, par exemple.

Puis, on peut écarter les insolubles de la boisson fermentée par centrifugation ou par filtration, par exemple.

De préférence, on traite alors thermiquement la boisson fermentée à 85-140° C pendant 30 s à 15 min, de manière à inactiver les levures et les bactéries et à éliminer tous les agents pathogènes.

La présente invention a également pour objet la boisson fermentée obtenue par la mise en oeuvre dudit procédé.

Le procédé de préparation d'une boisson fermentée selon la présente invention est décrit plus en détails dans les exemples non limitatifs ci-après. Dans ces exemples, les pourcentages et parties sont donnés en poids, sauf indication contraire. Les mesures de la teneur en éthanol et de la teneur en acide acétique desdites boissons fermentées ont été obtenues par la méthode de mesure enzymatique Bohringer(R). De plus, le pH a été mesuré par électrodes.

Exemple 1

On prépare du thé fermenté.

Dans une simple cuve ouverte, on infuse 1 % de thé vert dans de l'eau bouillante pendant 10 min. Pour ce faire, on plonge un sachet filtre contenant 1,2 kg de thé vert dans l'eau bouillante.

On retire le sachet filtre et l'on ajoute 11 % de saccharose à l'extrait aqueux dont la température a été préalablement ajustée à 30° C.

On effectue la fermentation en deux étapes. A cet effet, on inocule tout d'abord à l'extrait aqueux 0,1 % d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche *Saccharomyces cerevisiae* Castelli et on laisse fermenter à 30° C pendant 19 h. Puis on abaisse la température de l'extrait aqueux à 20° C, avant d'inoculer à l'extrait aqueux 1% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche d'*Acetobacter* CNCM I-1656 et l'on laisse fermenter à 20° C pendant 7 h, tout en brassant et en aérant, de manière à fournir un apport en oxygène.

En fin de fermentation, on abaisse la température de l'extrait aqueux à 5° C.

Puis, on isole le thé fermenté en écartant les insolubles par filtration.

Enfin, on stérilise à 140° C pendant 40 s le thé fermenté que l'on a préalablement conditionné.

On obtient ainsi un thé fermenté au goût de pomme, ayant un pH de 3,4 et présentant une teneur en éthanol de 0,32% et une teneur en acide acétique de 0,36%.

Exemple 2

On prépare du thé fermenté.

Dans une simple cuve ouverte, on infuse 1 % de thé vert dans de l'eau bouillante pendant 20 min. Pour ce faire, on plonge un sachet filtre contenant 1,2 kg de thé vert dans l'eau bouillante.

On retire le sachet filtre et l'on ajoute 7% de saccharose à l'extrait aqueux dont la température a été préalablement ajustée à 30° C.

On effectue la fermentation en une seule étape. Pour ce faire, avant la fermentation on ajuste le pH de l'extrait aqueux à 5 puis on inocule à l'extrait aqueux simultanément 0,05% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche *Saccharomyces cerevisiae* Castelli et 0,5% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche de *Gluconobacter suboxydans* DSM 50049 et l'on laisse fermenter à 30° C pendant 7 h, tout en brassant et en aérant, de manière à fournir un apport en oxygène.

En fin de fermentation, on abaisse la température de l'extrait aqueux à 5° C.

Puis, on isole le thé fermenté en écartant les insolubles par filtration.

Enfin, on pasteurise à 95° C pendant 5 min le thé fermenté que l'on a préalablement conditionné.

On obtient ainsi un thé fermenté sucré au goût de pomme, ayant un pH de 4,47 et présentant une teneur en éthanol de 0,05% et une teneur en acide acétique de 0,032%.

Exemple 3

On procède de la manière décrite à l'exemple 2, à l'exception du fait que lors de l'étape de fermentation on inocule 0,05% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche *Saccharomyces cerevisiae* Spady et 0,5% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche de *Gluconobacter suboxydans* DSM 50049.

On obtient ainsi un thé fermenté au goût de pomme, ayant un pH de 4,45 et présentant une teneur en acide acétique de 0,05%. Ledit thé fermenté contient de l'éthanol à l'état de traces.

Exemple 4

On infuse 1 % de thé vert dans de l'eau bouillante pendant 10 min. Pour ce faire, on plonge un sachet filtre contenant 1,2 kg de thé dans l'eau bouillante.

On retire le sachet filtre et l'on recueille dans un fermenteur de type PAC - Fermenteur APP No9-273-300-68, commercialisé par Chemap SA, CH-8604 VOLK-ETSWIL, l'extrait aqueux auquel on ajoute 11 % de saccharose.

55

10

15

20

30

35

On effectue la fermentation en deux étapes. A cet effet, on ajuste la température du fermenteur à 30° C. Chi ajuste la pression à 60 kPa, de manière à avoir une a consentration en oxygène de 10 mg/l dans le milieu de le mentation. On ajuste l'injection d'air dans le milieu de fermentation à 1000 l/h pour maintenir une concentration en oxygène stable. Enfin, on ajuste l'agitation du milieu de fermentation à 400 t/min, de manière que l'ensemble de l'extrait aqueux soit convenablement oxygéné au cours de la fermentation.

Dans ces conditions, on inocule à l'extrait aqueux 0,1 % d'une culture contenant 10⁸ germes d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* Castelli et l'on laisse fermenter à 30° C pendant 19 h. Puis on abaisse la temperature de l'extrait aqueux à 20° C et l'on ajuste la pression à 70 kPa, avant d'inoculer à l'extrait aqueux 1% d'une culture contenant 10⁸ germes d'une souche d'*Acetobacter* CNCM I-1656 pendant 7 h.

En fin de fermentation, on abaisse la température de l'extrait aqueux à 5° C.

Puis, on isole le thé fermenté en écartant les insolubles par filtration.

Enfin, on stérilise à 140° C pendant 40 s le thé fermenté que l'on a préalablement conditionné.

On obtient ainsi un thé fermenté au goût de pomme, ayant un pH de 3,4 et présentant une teneur en éthanol de 0,32% et une teneur en acide acétique de 0,36%.

Exemple 5

On prépare du café fermenté.

Pour ce faire, on dilue 1% de café soluble dans de l'eau bouillante.

On ajuste la température de l'extrait aqueux à 30° C, avant d'y ajouter 5% de saccharose.

On effectue la fermentation en une seule étape. Pour ce faire, avant la fermentation on ajuste le pH de l'extrait aqueux à 5 puis on inocule à l'extrait aqueux simultanément 0,05% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche *Saccharomyces cerevisiae* Castelli et 0,5% d'une culture contenant 10⁸ germes de la souche d'*Acetobacter* CNCM I-1656 et l'on laisse fermenter à 30° C pendant 7 h, tout en brassant et en aérant, de manière à fournir un apport en oxygène.

En fin de fermentation, on abaisse la température de l'extrait aqueux à 5° C.

Puis, on isole le café fermenté en écartant les insolubles par filtration.

Enfin, on pasteurise à 95° C pendant 5 min le café fermenté que l'on a préalablement conditionné.

On obtient ainsi un café fermenté au goût fruité, ayant un pH de 4,31 et présentant une teneur en acide de 0,03%. Ledit café fermenté contient de l'éthanol à l'état de traces.

Revendications

1. Procédé de préparation d'une boisson fermentée,

dans lequel:

- on prépare un extrait aqueux à partir de 0,5-2% de thé ou de café.
- on ajoute à cet extrait 4-13% de sucre,
- on effectue une fermentation en une ou plusieurs étapes avec au moins une souche de levure et au moins une souche bactérienne.
- on écarte les insolubles de la boisson fermentée
- puis on la traite thermiquement à 85-140° C pendant 30 s à 15 min.
- Procédé selon la revendication 1, dans lequel on prépare l'extrait aqueux à partir de 0,5-2% de thé noir ou vert que l'on infuse dans de l'eau bouillante pendant 3-30 min.
- Procédé selon la revendication 1, dans lequel on effectue ladite fermentation en une seule étape en inoculant à l'extrait aqueux simultanément une souche de levure et une souche bactérienne, en conditions aérobes, à 27-32° C pendant 2-10 h.
- 25 4. Procédé selon la revendication 2, dans lequel on ajuste le pH dudit extrait aqueux à une valeur de 4 à 5,5 avant la fermentation.
 - 5. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on effectue ladite fermentation en conditions aérobes en deux étapes en inoculant à l'extrait aqueux tout d'abord une souche de levure à 27-32° C, pendant 15-27 h, puis en inoculant à l'extrait aqueux une souche bactérienne à 20-32° C pendant 3-9 h.
 - Procédé selon la revendication 3, dans lequel on ajuste la température du milieu à 17-25° C avant d'inoculer la souche bactérienne.
- 7. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on inocule à l'extrait aqueux 0,02-0,2% d'une culture contenant 10⁷ à 10¹⁰ germes de souche de levure pour la fermentation en une ou plusieurs étapes.
- 45 8. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on inocule à l'extrait aqueux 0,2-1,5% d'une culture contenant 10⁷ à 10⁹ germes de souche bactérienne pour la fermentation en une ou plusieurs étapes.
 - Procédé selon la revendication 1, dans lequel on abaisse la température à 0-12° C en fin de fermentation.
 - 10. Boisson fermentée obtenue par le procédé selon l'une des revendications 1-9.



RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numero de la demande EP 96 20 0359

Catégorie	Citation du document avec des parties per	indication, en cas de besoin, tinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CL6)
Y	DATABASE WPI Week 9543 Derwent Publication AN 95-328800 XP002009208 & CN-A-1 094 259 (C CO) * abrégé *		A23F5/24 A23F3/16	
Y	BIOCHEMISCHE ZEITSCHRIFT, vol. 192, 1928, pages 176-187, XP000576888 S. HERMANN: "Über die sogenannte Kombucha" * page 177 - page 178 *		1,2,10	
Y	Z. LEBENSM. UNTERS. FORSCH., vol. 198, no. 3, 1994, pages 258-261, XP002009206 J. REISS: "Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus" * page 258 - page 259; tableau 1 *		1,4,10	DOMAINES TECHNIQUE RECHERCHES (Int.Cl.6)
Υ	BIOTECHNOLOGY LETTE vol. 18, no. 2, 199 pages 139-142, XPOO P. BLANC: "Charact fungus metabolites" * page 140 *	1,2,4,10	A23F	
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 107, no. 21, 23 Novembre 1987 Columbus, Ohio, US; abstract no. 196558, XP002009207 * abrégé * & CN-A-8 510 359 (BEJING FOODSTUFFS INSTITUTE)		1,3,10	
		, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	-	
•	ésent rapport a été établi pour to	Date d'achèvement de la recherche	_L	Examinates
	LA HAYE	24 Juillet 1996	Des	medt, G
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite		CITES T: théorie ou pri E: document de l date de dépôt D : cité dans la d L : cité pour d'au	T: théorie ou principe à la base de l'invention E: document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D: cité dans la demande L: cité pour d'autres raisons A: membre de la même famille, document correspondant	



RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numero de la demande EP 96 20 0359

Catégorie	Citation du document avec des parties pe	indication, en cas de besoin, rtinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CL6)
A	PHARMACEUTICA ACTA vol. 32, no. 4, 195 pages 133-154, XPOG K. STEIGER ET AL.: * page 145 - page 1	57, 00576887 "Über den Teepilz"	1,2,6,10	
A,D	DEUTSCHE LEBENSMITT vol. 83, no. 9, 198 pages 286-290, XP00 J. REISS: "Der Tee Stoffwechselprodukt * page 288 *	37, 00575563 epilz und seine	1,4,10	
A	DATABASE WPI Week 9246 Derwent Publication AN 92-377558 XP002009209 & JP-A-04 278 072 (* abrégé *	KANEBO LTD)	1,10	DOMAINES TECHNIQUE RECHERCHES (Int.Cl.6)
	ésent rapport a été établi pour to Lies de la recherche	outes les revendications Date d'achèvement de la recherche		Exeminates
	LA HAYE	24 Juillet 19	96 Desm	medt, G
X : par Y : par aut A : arri	CATEGORIE DES DOCUMENTS ticulièrement pertinent à lui seul ticulièrement pertinent en combinais re document de la même catégorie lére-plan technologique ulgation non-écrite	CITES T: théorie ou E: document date de dé on avec un D: cité pour u	principe à la base de l'in de brevet antérieur, mais pôt ou après cette date la demande l'autres raisons	ovention s publié à la

6